FAT EMULSION FOR ENDOTRACHEAL APPLICATION, ITS PRODUCTION AND USE

Patent number: WO9008543
Publication date: 1990-08-09
Inventor: GEORGIEFF MICHAEL (DE); NEHNE JOERG (DE); BOLL MICHAEL (DE)
Applicant: BRAUN MELSUNGEN AG (DE)
Classification:
- International: A61K9/00; A61K9/107; A61K17/24; A61K31/20; A61K31/23
- european: A61K9/00N6; A61K31/20; A61K31/23
Application number: WO1990EP00170 19900131
Priority number(s): DE19893903057 19890202

Also published as:
EP0456764 (A1)
DE3903057 (A1)
EP0456764 (B1)

Cited documents:
EP0298293
EP0311091

Report a data error here

Abstract not available for WO9008543
Abstract of corresponding document: **DE3903057**

This emulsion contains omega -3 fatty acids, in particular eikosapentaene acid (EPA), or their physiologically tolerable esters as components of the fatty phase. Altogether, it contains the following: omega -fatty acids, in particular EPA, or their physiologically acceptable esters in their pure form or as components of fish oils and/or fish oil fractions; at least one physiologically acceptable emulsifier; optionally, further fats such as medium-chained triglycerides (MCT); optionally, alpha -tocopherol or physiologically acceptable alpha -tocopherol-esters; optionally, ascorbic acid or physiologically acceptable ascorbic acid esters; and the usual additives and auxiliary substances. The total fat content is comprised between 2 and 20% and the emulsifier content is comprised between 5 and 20% (relative to the fat content). Production and use of this emulsion are also described.

Data supplied from the ***esp@cenet*** database - Worldwide

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 :
A61K 31/20, 31/23, 9/00
A61K 9/107, 17/24

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 90/08543

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 9. August 1990 (09.08.90)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP90/00170

(22) Internationales Anmeldedatum: 31. Januar 1990 (31.01.90)

(30) Prioritätsdaten:
P 39 03 057.1 2. Februar 1989 (02.02.89) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: B. BRAUN MELSUNGEN AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-3508 Melsungen (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)* : GEORGIEFF, Michael [DE/DE]; An der Lehrten 5, D-7834 Herbolzheim (DE). NEHNE, Jörg [DE/DE]; Wesserring 7, D-3501 Guxhagen (DE). BOLL, Michael [DE/DE]; Liepziger Straße 6, D-3508 Melsungen (DE).

(74) Anwalt: VON KREISLER, Alek; Deichmannhaus am Hauptbahnhof, D-5000 Köln 1 (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US.

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: FAT EMULSION FOR ENDOTRACHEAL APPLICATION, ITS PRODUCTION AND USE

(54) Bezeichnung: OMEGA-3-FETTSÄURENHALTIGE FETTEMULSION ZUR ENDOTRACHEALEN APPLIKATION, IHRE HERSTELLUNG UND ANWENDUNG

(57) Abstract

This emulsion contains ω-3 fatty acids, in particular eikosapentaene acid (EPA), or their physiologically tolerable esters as components of the fatty phase. Altogether, it contains the following: ω-fatty acids, in particular EPA, or their physiologically acceptable esters in their pure form or as components of fish oils and/or fish oil fractions; at least one physiologically acceptable emulsifier; optionally, further fats such as medium-chained triglycerides (MCT); optionally, α-tocopherol or physiologically acceptable α-tocopherol-esters; optionally, ascorbic acid or physiologically acceptable ascorbic acid esters; and the usual additives and auxiliary substances. The total fat content is comprised between 2 and 20% and the emulsifier content is comprised between 5 and 20% (relative to the fat content). Production and use of this emulsion are also described.

(57) Zusammenfassung

Offenbart wird eine Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, enthaltend ω-3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), bwz. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, dadurch gekennzeichnet, daß die Fettemulsion: ω-3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre pysiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfraktionen, mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator, gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyzeride (MCT), gegebenenfalls α-Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche α-Tocopherolester, gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie, übliche Zusatz- und Hilfsstoffe enthält, wobei der gesamte Fettgehalt zwischen 2 und 20% liegt und der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 20% (bezogen auf den Fettgehalt) liegt, ihre Herstellung und Anwendung.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MR	Mauritanien
BB	Barbados	FR	Frankreich	MW	Malawi
BE	Belgien	GA	Gabon	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BJ	Benin	IT	Italien	SD	Sudan
BR	Brasilien	JP	Japan	SE	Schweden
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CG	Kongo	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CH	Schweiz	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CM	Kamerun	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland, Bundesrepublik	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

Omega-3-fettsäurenhaltige Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, ihre Herstellung und Anwendung.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, die Herstellung dieser Fettemulsion sowie deren Anwendung.

Das Lungenversagen ist die lebensbedrohliche Folge verschiedener pulmonaler Affektionen und extrapulmonaler Erkrankungen wie Pneumonie, Aspiration, inhalative Noxen, Schock, Sepsis, Trauma, Verbrennung, Intoxikationen und anderem.

Den auslösenden Uraschen ist gemeinsam, daß sie die klassischen Kaskaden-Systeme (Kallikrein-Kinin-System, Komplement-System, Gerinnungs-System) aktivieren. Im Zuge dieser Aktivierung werden Intermediärprodukte und Endprodukte gebildet, die allesamt den Arachidonsäurestoffwechsel aktivieren und zur Bildung von Prostaglandinen, Thromboxanen und Leukotrienen anregen. Diese zusammenfassend als Eikosanoide bezeichneten Mediatoren bilden aufgrund ihrer vasoaktiven Eigenschaften sowie wegen ihres

Einflusses auf Entzündung und Gefäßpermeabilität und in Kombination mit anderen Faktoren eine der Hauptursachen für das Lungenversagen bzw. andere entzündliche, traumatische und allergische Lungenerkrankungen. Außer den genannten Kaskaden-Systemen wirken auch alveoläre Hypoxie und unspezifische Reize verschiedenster Art (Embolie, Histamin, Toxine) als Stimulatoren des Eikosanoidsystems, indem sie Arachidonsäure aus pulmonalen Membranphospholipiden freisetzen. Dies unterstreicht die entscheidende Rolle der Arachidonsäure und ihrer Folgeprodukte als Endstreckenmediatoren des Lungenversagens (H. Neuhof, Medizinische Welt 35, (1984) 1457-1467).

Unmittelbar nach ihrer Freisetzung aus Membranphospholipiden entstehen aus der Arachidonsäure Prostaglandine und Thromboxane; von diesen sind das vasokonstriktorische und proaggregatorische TXA_2 und das zu einer pulmonalen Gefäßverengung führende PGF_{2a} als wesentliche Faktoren bei der für die Pathogenese des Lungenversagens bedeutsamen Zunahme des pulmonalen Strömungswiderstands bekannt. Weitere Folgeprodukte des stimulierten Arachidonsäurestoffwechsels sind die Leukotriene, die z.T. die Gefäßpermeabilität erhöhen und auf diese Weise die Bildung von Lungenödemen fördern.

Die zentrale Rolle, die die Arachidonsäure in der Pathogenese von Lungenerkrankungen einnimmt, prädestiniert sie zu einem der Hauptangriffspunkte möglicher therapeutischer Interventionen. Hemmstoffe der Phospholipasen, also der Arachidonsäurefreisetzung, Hemmstoffe der Lipoxygenasen und/oder der Zyklooxygenasen, also der Leukotrien- und/oder Prostaglandinsynthese, sind in diesem Zusammenhang zu nennen und wurden mit unterschiedlichem Erfolg bereits zur Prophylaxe bzw. Therapie des Lungenversagens eingesetzt.

In jüngster Zeit wurde außerdem vorgeschlagen, die Wirkungen der Arachidonsäure, die zu den ω-6-Fettsäuren zählt, durch ω-3-Fettsäuren, zu deren Hauptvertretern Eikosapentaensäure und Dokosahexaensäure gehören, und die natürlicherweise hauptsächlich in Fischölen vorkommen, zu antagonisieren.

Das US-Patent 4 526 902 beschreibt Mischungen aus 25 bis 75 Gew.-% Eikosapentaensäure und/oder Dokosahexaensäure und einer ω-6-Fettsäure, die enteral als Bestandteil von Pharmazeutika oder fetthaltigen Nahrungsmitteln wie Butter oder ähnlichem verwendet werden.

In der EP 0 120 169 B1 sind synthetische Triglyzeride beschrieben, die am mittleren C des Glyzerinmoleküls eine mehrfach ungesättigte Fettsäure, vorzugsweise Eikosapentaensäure oder Dokosahexaensäure, besitzen können. Die so erzeugten Glyzeride können als Nahrungsmittel, Nahrungsergänzungsmittel oder als Arzneimittel für die therapeutische Ernährung verwendet werden.

Die JP-OS Sho-58-230918 beschreibt eine Eikosapentaensäure enthaltende Emulsion zur oralen und nicht-oralen Verwendung. Diese enthält 1 bis 40 w/v-% Eikosapentaensäure und/oder Dokosahexaensäure bzw. vorzugsweise deren Methyl- oder Ethylester, 1 bis 30 w/v-% eines Pflanzenöls, vorzugsweise Sojaöl, 0,01 bis 30 w/v-% α-Tocopherol, und als Emulgatoren 0,1 bis 5 w/v-% eines Phospholipids, vorzugsweise aus Eigelb und/oder Soja, sowie 0,1 bis 10 w/v-% eines nichtionischen synthetischen Emulgators.

Die DE-OS 34 09 793 offenbart eine flüssige Emulsion zur Transfusion mit antithrombotischer und antiarteriosklerotischer Wirkung, die zur Nahrungsergänzung dienen kann. Sie besteht neben Wasser zu 5 bis 20 w/v-% aus Eikosapentaensäure, Dokosahexaensäure oder deren Ester und sie ist vorzugsweise ein gereinigtes

Fischöl, wie Sardinenöl. Weiterhin enthält sie 1 bis 19 w/v-% eines Pflanzenöls, vorzugsweise Soja- und/ oder Safloröl, sowie 1 bis 2 w/v-% eines Phospholipidemulgators, vorzugsweise aus Eigelb oder Soja. Dieser Fettemulsion kann als Antioxidans α-Tocopherol zugefügt werden.

WO 87/02247 beschreibt Fettemulsionen, enthaltend Fischöle mit hohem Anteil an ω-3-Fettsäureestern, die zur intravenösen Anwendung bei der Behandlung thrombotischer Erkrankungen vorgesehen sind.

In der EP-0 271 909 wird die Herstellung synthetischer Triglyzeride beschrieben, die als Fettsäuren solche mit einer Kettenlänge von 6 bis 12 C-Atomen, 14 bis 18 C-Atomen (Vorzugsweise Linolsäure) sowie 20 bis 22 C-Atomen (vorzugsweise Eikosapentaensäure) in variablen Kombinationen und Relationen enthalten.

SE 8705122-A0 beschreibt ein Verfahren zur Herstellung einer intravenösen Fettemulsion, die ω-3-Fettsäuren als Bestandteil des Emulgators enthält.

Die DE-OS 37 34 147 betrifft eine isotone Fettemulsion zur parenteralen Applikation, enthaltend ω-3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA) oder ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, die dadurch gekennzeichnet ist, daß die Fettemulsion

- diese ω-3-Fettsäuren oder Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen,
- mittelkettige Triglyzeride (MCT),
- mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
- gegebenenfalls mindestens ein ω-6-Fettsäuren lieferndes Pflanzenöl,
- α-Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche α-Tocopherolester, sowie

- übliche Zusatz- und Hilfsstoffe

enthält, wobei

- das Verhältnis von EPA oder ihren physiologisch unbedenklichen Estern zu MCT zwischen 1 : 9 und 3 : 5 liegt,
- der gesamte Fettgehalt zwischen 5 und 30 % liegt,
- der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 12 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt und
- der Gehalt an ω-6-Fettsäuren liefernden Pflanzenölen zwischen 0 und 30 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

Der Einfluß von Eikosanoiden, die aus ω-3-Fettsäuren, vor allem der Eikosapentaensäure, gebildet werden, auf Eikosanoide aus der Arachidonsäure kann sowohl unterstützend als auch hemmend sein: unterstützt wird z.B. die vasodilatorische und antiaggregatorische Wirkung des Prostazyklins (PGI_2) aus der ω-6-Reihe durch das analoge PGI_3 aus der ω-3-Reihe, das ein ähnliches Wirkprofil besitzt. Dagegen wird der vasokonstriktorische und proaggregatorische Effekt von TXA_2 (ω-6) durch TXA_3 (ω-3), das biologisch nicht aktiv ist, kompetitiv gehemmt, und PGE_3 (ω-3), selbst weitgehend inaktiv, inhibiert die bronchokonstriktorischen, ödemfördernden und immunsuppressiven Eigenschaften von PGE_2 (ω-6).

Ähnliche Interaktionen wie bei den Prostaglandinen und Thromboxanen treten auch zwischen den Leukotrienen aus der ω-6- bzw. ω-3-Fettsäurenreihe auf. LTB_4 (ω-6) beipsielsweise ist ein hochpotenter Entzündungsmediator, während LTB_5 (ω-3) nur geringe inflammatorische Aktivität zeigt und die Wirkung von LTB_4 infolgedessen abschwächt.

Sowohl ω-6- als auch ω-3-Fettsäuren können vom menschlichen Organismus nicht selbst gebildet sondern müssen von außen zugeführt werden, um ihren Bestand im Körper zu sichern. Bei den in Europa und Amerika üblichen Kostformen, der sogenannten

"western diet", überwiegen ω-6-Fettsäuren bei weitem; auch in der künstlichen enteralen wie parenteralen Ernährung dominieren ω-6-Fettsäuren, die infolgedessen auch den Hauptanteil der Fettsäuren in den Membranphospholipiden des Körpers ausmachen. Bei einer Stimulation des Eikosanoidstoffwechsels durch die eingangs erwähnten Noxen überwiegen daher auch diejenigen Eikosanoidwirkungen, die die Entwicklung von Lungenerkrankungen begünstigen.

Die Kenntnis von den in pathologischen Situationen nachteiligen Wirkungen der ω-6-Fettsäuren und von ihrer möglichen Antagonisierung durch ω-3-Fettsäuren hat zu diätetischen Empfehlungen für die unterstützende Behandlung solcher Erkrankungen geführt, in deren Pathogenese Eikosanoide Mediatorfunktion besitzen. Auch für die parenterale Ernährung, in deren Rahmen bisher nur Fettemulsionen mit relativ hohem Anteil von ω-6-Fettsäuren und sehr geringem Gehalt von ω-3-Fettsäuren zum Einsatz gelangten, wurde eine Änderung dieses Verhältnisses zugunsten des ω-Fettsäurenanteils empfohlen (W. Alexander, Arch. Surg. (1986) 966-972). Dies vor allem deswegen, weil gerade bei tienten mit absoluter Indikation für parenterale Ernährung, also polytraumatisierten Patienten, Patienten mit Sepsis, Patienten im Streßstoffwechsel, stets das Risiko eines Lungenversagens droht, ein Risiko, das durch den hohen Gehalt von ω-6-Fettsäuren in den handelsüblichen Fettemulsionen und der damit verbundenen Stimulierung des Arachidonsäuremetabolismus noch verstärkt wird.

Tierexperimentelle Untersuchungen haben gezeigt, daß es durch Verabreichung von ω-3-Fettsäuren im Gegensatz zu ω-6-Fettsäuren tatsächlich möglich ist, die im Endotoxinschock gefährdete Lungenfunktion zu verbessern, die Sauerstoffversorgung und die Homöostase der Blutgase aufrechtzuerhalten und die Mortalität zu senken. Demgegenüber zeigten die Tiere, die eine ω-6-

fettsäurenreiche Diät erhielten, eine metabolische Azidose und höhere Mortalität bzw. kürzere Überlebenszeit (E. Mascioli et al., Clin. Nutr. 4, Special Supplement (1985) 99; E. Mascioli et al., JPEN 11/1, Supplement (1987) 23S; J.J. Pomposelli et al., JPEN 12/1, Supplement (1988) 9S). Bemerkenswert ist, daß solche Befunde sowohl unter enteraler als auch unter parenteraler Zufuhr von ω-3-Fettsäuren bzw. ω-6-Fettsäuren als Kontrolle erhalten wurden.

In den betreffenden Untersuchungen war es allerdings erforderlich, die ω-3-Fettsäuren über einen längeren Zeitraum zu verabreichen, um die genannten Wirkungen zu erzielen. Dieser Umstand schränkt den therapeutischen Wert der enteralen oder parenteralen Verabreichung von ω-3-Fettsäuren zur Behandlung von Lungenkrankheiten ein. Es besteht statt dessen ein Bedarf an einer Darreichungsform, die die therapeutische Wirkung von ω-3-Fettsäuren schneller zur Geltung kommen läßt als bei den bisherigen Anwendungen.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, eine neuartige Fettemulsion zur endotrachealen Applikation bereitzustellen.

Im Gegensatz zu allen bisherigen therapeutischen Ansätzen zur Behandlung von Lungenerkrankungen, die auf der systemischen Zufuhr von Wirkstoffen basieren, und im Gegensatz zu den bisherigen Vorschlägen zur Verabreichung von ω-3-Fettsäuren, wurde überraschenderweise gefunden, daß eine hervorragende protektive Wirkung auf die Lunge vor den Folgen eines Endotoxinschocks stets dann erzielt wird, wenn im Tierversuch beispielsweise Ratten mit der Fettemulsion zur endotrachealen Applikation behandelt werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft somit eine Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, enthaltend ω-3-Fettsäuren, insbe-

sondere Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, die dadurch gekennzeichnet ist, daß die Fettemulsion

- ω-3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfraktionen,
- mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
- gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyzeride (MCT),
- gegebenenfalls α-Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche α-Tocopherolester
- gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie
- übliche Zusatz- und Hilfsstoffe

enthält, wobei

- der gesamte Fettgehalt zwischen 2 und 20 % liegt und
- der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 20 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

ω-3-Fettsäuren, insbesondere aber Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester können erfindungsgemäß entweder in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfraktionen verwendet werden.

Physiologisch und pharmakologisch unbedenklich sind niedere Alkylester bzw. Glyzerinester der ω-3-Fettsäuren, insbesondere der EPA. Bevorzugt sind die Ethylester und Triacylglyzerole.

Geeignete Fischöle sind beispielsweise solche, wie sie technisch in bedeutendem Umfang aus Kaltwasserfischen gewonnen werden. Bevorzugt sind hochgereinigte Fischölkonzentrate oder Fischölfraktionen, die beispielsweise aus Makrele, Sardine, Hering oder Lachs gewonnen werden, wobei diese einen EPA-Gehalt von vorzugsweise mindestens 25 % (bezogen auf die Fettsäuremethylester des Fischölkonzentrats) besitzen.

Als Eventualkomponente "weitere Fette" werden erfindungsgemäß mittelkettige Triglyzeride verwendet, die zu mindestens 90 % aus Glyzeriden der Caprylsäure und Caprinsäure bestehen. Der Gehalt dieser Komponenten liegt (bezogen auf den lipophilen Anteil der Emulsion) bei 0 bis 90 %.

Als Emulgatoren werden physiologisch unbedenkliche Emulgatoren wie Phospholipide tierischen und pflanzlichen Ursprungs verwendet, insbesondere solche aus Hühnereigelb oder Soja.

Der Emulgatorgehalt beträgt 5 bis 20 % (bezogen auf den Fettgehalt) und der gesamte Fettgehalt der Fettemulsion beträgt zwischen 2 und 20 %.

Als Emulgierhilfsstoffe können weiterhin Natriumsalze langkettiger Fettsäuren (bevorzugt in einer Konzentration von 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) und/oder Cholesterin oder Cholesterinester (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) verwendet werden.

Die Fettemulsion weist vorzugsweise einen pH-Wert im Bereich von 6 bis 9 auf.

Weiterhin kann der Fettemulsion gegebenenfalls α-Tocopherol oder α-Tocopherol-Ester in einer Menge von 0 bis 100 mg, bezogen auf 100 g Fett, zugegeben werden, insbesondere wenn ω-3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre Ester in Reinform verwendet werden.

Schließlich kann der Fettemulsion gegebenenfalls außerdem Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenklicher Ascorbinsäureester in einer Menge von 0 bis 500 mg, bezogen auf 100 g Fett, zugegeben werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung einer Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß man die vorstehend beschriebenen Komponenten zunächst dispergiert und daraufhin homogenisiert.

Die Erfindung betrifft schließlich eine Fettemulsion zur endotrachealen Verwendung bei respiratorischer Insuffizienz, inhalativen Noxen, chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen und Aspirationspneumonie. Weiterhin verwendet man die Fettemulsion zur endotrachealen Ernährung und setzt die Fettemulsion insbesondere bei den vorstehend genannten Indikationen zur Verbesserung der Splanchnikusperfusion und damit zur Steigerung der Klärfunktion des RES ein.

In dem betreffenden, unten näher beschriebenen Experiment wurde durch die Infusion von Endotoxin bei Ratten eine Schocksituation erzeugt. An den beiden der Endotoxininfusion vorangehenden Tagen waren die Tiere auf endotrachealem Weg mit entweder einer ω-3-fettsäurenhaltigen Emulsion (EPA-Ethylester) oder einer ω-6-fettsäurenhaltigen Emulsion (Intralipid^R) bzw. mit Kochsalzlösung (als Plazebo) behandelt worden. Der Endotoxinschock hatte in der Gruppe mit ω-3-Fettsäuren eine signifikant geringere Mortalität als in der Kochsalz-Gruppe und in der Gruppe mit ω-6-Fettsäuren zur Folge. Im Gegensatz zu der Plazebo-Gruppe und der Vergleichsgruppe mit ω-6-Fettsäuren zeigten die Tiere mit ω-3-Fettsäuren nur geringe Symptome einer respiratorischen Insuffizienz, und der histologische Befund der Lunge blieb weitgehend normal. Bei der Gruppe mit ω-3-Fettsäuren war die Konzentration von TXB_2, einem stabilen Metaboliten des aus Arachidonsäure gebildeten Thromboxan A_2, in der Lunge signifikant geringer als bei den beiden anderen Gruppen, ebenso wie die Konzentrationen von PGE_2 und PGF_{2a}, die ebenfalls beide aus Arachidonsäure entstehen. Dies beweist die erfolgreiche Hemmung

der Arachidonsäuremetabolite durch die erfindungsgemäße Verabreichung von ω-3-Fettsäuren und erklärt die bessere Resistenz der mit Eikosapentaensäureethylester behandelten Tiere gegenüber den Folgen des Endotoxinschocks. Diese Resistenz ergibt sich aus der eikosapentaensäureinduzierten Modulation des Wirkungsspektrums von Arachidonsäuremetaboliten, die - wenn sie nicht wie bei der beschriebenen Erfindung antagonisiert werden - die Ausbildung eines Lungenversagens neben anderen Schockreaktionen fördern.

Gegenüber allen anderen Anwendungsarten zeichnet sich die erfindungsgemäße endotracheale Anwendung von ω-3-Fettsäuren bei Erkrankungen der Lunge dadurch aus, daß die Arachidonsäureantagonisten akut und unmittelbar an das Zielorgan herangebracht werden. Auf diese Weise lassen sich mit geringeren Dosen als bei systemischer (intravenöser oder oraler) Anwendung höhere Wirkspiegel am Ort des Krankheitsgeschehens erreichen, systemische Nebenwirkungen, z.B. eine Hemmung der Prostazyklin-Produktion, lassen sich vermeiden, die Dosierung kann besser an der Wirkung orientiert und variabler gesteuert werden. Außerdem lassen sich eventuell bestehende Störungen der Diffusion vom Gefäß zum Lungengewebe umgehen. Bei bereits beatmungspflichtigen Patienten besteht die Möglichkeit, ω-3-Fettsäurenester direkt oder mittels Vernebler in den Tubus zu applizieren. Bei nicht beatmeten Patienten läßt sich der Wirkstoff als Aerosol (Inhalationsspray) verabreichen. Derartige Dosieraerosole werden nach allgemein bekannter Technik mit den in dem Abschnitt "Herstellungsbeispiele" näher beschriebenen Emulsionen und den üblicherweise verwendeten Treibgasen/Treibgasgemischen befüllt.

Die Erfindung wird im folgenden durch Anwendungsbeispiele und Herstellungsbeispiele näher erläutert. Bei den Prozentangaben in der Beschreibung und in den Patentansprüchen handelt es sich, sofern nichts Anderes angegeben, um solche in Gramm pro 100 ml Lösung.

Die Wirkung der erfindungsgemäßen Fettemulsion wird durch folgende Untersuchung näher erläutert:

30 Ratten wurden einzeln in Stoffwechselkäfigen bei einer Raumtemperatur von 22 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 70 % gehalten sowie mit Wasser und Standardfutter ad libitum versorgt. Nach dreitägiger Eingewöhnungsphase wurden die Tiere randomisiert drei Behandlungsgruppen zugeteilt:

Gruppe I: (Plazebogruppe) Behandlung mit physiologischer Kochsalzlösung (Tagesdosis: 10 ml/kg KG)

Gruppe II: Behandlung mit einer 10 %igen erfindungsgemäßen Emulsion von Eikosapentaensäureethylester gemäß Herstellungsbeispiel 1 (Tagesdosis: 10 ml/kg KG)

Gruppe III: Behandlung mit 10 % Intralipid^{R}
Zusammensetzung: 100 g fraktioniertes Sojaöl, 12 g fraktioniertes Eilecithin und 22,5 g Glycerin, mit destilliertem Wasser auf 1 000 ml ergänzt
(Tagesdosis: 10 ml/kg KG).

Die Testsubstanzen wurden den Ratten in vier Einzeldosen/Tag an zwei aufeinanderfolgenden Tagen per injectionem über eine Sonde in die Trachea verabreicht. 14 h nach der letzten Injektion erhielten sämtliche Tiere über die Schwanzvene eine achtstündige Endotoxin-Infusion (0,7 mg . kg^{-1} . h^{-1}; Kontroll-Standard-Endotoxin von Difco, Detroit). Unmittelbar nach der Endotoxin-Infusion wurden die Tiere getötet und seziert.

Während der Endotoxininfusion fielen die Tiere der Gruppe I und insbesondere der Gruppe III durch drastisch erhöhte Atemfrequenz und Atemtiefe auf; der Kreislauf war zentralisiert; aus der Nase dieser Tiere trat schaumiges Exsudat.

Demgegenüber ließen die Ratten, die mit der erfindungsgemäßen Fettemulsion auf Basis von Eikosapentaensäureethylester behandelt worden waren (Gruppe II), nur eine geringe Ventilationssteigerung bei weitgehendem Fehlen der übrigen Zeichen erkennen.

Im Vergleich zu der Plazebogruppe (Gruppe I) lag das Lungengewicht bei der Sektion in Gruppe II (Eikosapentaensäureethylester) um durchschnittlich 15 % niedriger und in Gruppe III um durchschnittlich 24 % höher.

Die histologische Untersuchung von hämatoxylin- und eosingefärbten Lungenschnitten ergab in der Gruppe II einen weitgehend normalen Befund; in den Gruppen I und III wurden dagegen ödematös geschwollene Alveolen mit ausgeprägter leukozytärer Infiltration der Zellen vorgefunden (s. Anlage, Abb. 1a-c).

Nach Homogenisation und Zentrifugation von Lungengewebe, das bei der Sektion entnommen worden war, wurden im Zentrifugationsüberstand mittels handelsüblicher Radioimmunoassay-Kits die Konzentrationen ausgewählter Mediatoren aus dem Prostaglandinstoffwechsel (TXB_2, PGF_{2a}, PGE_2) bestimmt.

Konzentration der Prostaglandin-Mediatoren im Lungenhomogenat (MW $\pm$ SD; pg/ml):

	TXB_2	PGF_{2a}	PGE_2
Gruppe I:	22,1 $\pm$ 3,8	11,0 $\pm$ 3,3	7,1 $\pm$ 1,7
Gruppe II:	9,9 $\pm$ 3,1[1)]	5,9 $\pm$ 2,0[1)]	3,4 $\pm$ 1,6[1)]
Gruppe III:	30,9 $\pm$ 5,8	15,3 $\pm$ 3,3	9,2 $\pm$ 2,8

1) $p < 0,01$ vs. Gr. I und Gr. III

TXB_2, ein stabiler Metabolit des stark vasokontriktorischen TXA_2, zeigte in der Gruppe II die signifikant niedrigsten Konzentrationen, ebenso das zur pulmonalen Gefäßverengung führende PGF_{2a} sowie das bronchokonstriktorische und immunsuppressive PGE_2. Alle drei Eikosanoide entstammen der Arachidonsäure (ω-6) und spielen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese des Lungenversagens (siehe Einleitung). Die geringeren Konzentrationen dieser drei Mediatoren in Gruppe II beweisen die erfolgreiche Hemmung des Arachidonsäurestoffwechsels durch die zugeführten ω-3-Fettsäuren und die Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verabreichung von ω-3-fettsäurenhaltigen Emulsionen.

Kurz vor der Tötung der Tiere wurden außerdem Blutproben zur Bestimmung der Glukosekonzentration entnommen:

Blutglukose (MW $\pm$ SD; mg/ml)

Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
$108 \pm 12^{1)}$	$101 \pm 10^{2)}$	126 ± 16

1) $p < 0{,}005$ vs. Gruppe III
2) $p < 0{,}001$ vs. Gruppe III

Die Glukosekonzentration lag unter den endotracheal verabreichten erfindungsgemäßen ω-3-Fettsäuren am niedrigsten. Der Anstieg des Blutzuckers in den beiden anderen Gruppen ist Ausdruck einer verstärkten hepatischen Glukoseproduktion, die ihrerseits die Folge einer unter dem vasokonstriktorischen Einfluß von TXA_2 und PGF_{2a} verminderten Splanchnikusperfusion darstellt. Unter dem vasodilatorischen Einfluß von Eikosapentaensäure nimmt dagegen die Splanchnikusperfusion zu und die Glukosehomöostase normalisiert sich. Aus pathophysiologischer

Sicht ist die Verbesserung der Splanchnikusperfusion auch deswegen von Bedeutung, weil dadurch die normale Klärfähigkeit der Leber für Bakterien und Toxine wiederhergestellt wird und deren negative Sekundärwirkungen auf die Lunge verhindert werden.

Herstellungsbeispiele

Beispiel 1:

Eine Mischung aus 100 g Eikosapentaensäureethylester, 12,0 g gereinigten Eiphospholipiden, 100 mg α-Tocopherol und 0,2 g Natriumstearat wird mittels eines Ultra-Turrax fein dispergiert. Mit Aqua ad iniectabilia, das 25,0 g Glycerol und 0,5 mmol NaOH enthält, wird unter Rühren auf 1,0 l aufgefüllt. Diese grobe Voremulsion wird in einem Hochdruckhomogenisator bei einem Druck von 400 kg/cm^2 homogenisiert. Nach Abfüllung in Glasvials geeigneter Qualität wird nach allgemein bekannten Verfahren hitzesterilisiert. Die Teilchen der sterilen Emulsion sind kleiner als 1 µm.

Beispiel 2:

Eine Mischung aus 40 g Eikosapentaensäureethylester, 60 g MCT, 12 g gereinigten Eiphospholipiden, 50 mg α-Tocopherol und 0,2 g Natriumstearat wird, wie unter Beispiel 1 beschrieben, dispergiert und nach Auffüllen mit Aqua ad iniectabilia (enthält 50 g Glycerol) auf 2 l homogenisiert, abgefüllt und sterilisiert. Die Emulsionstropfen sind kleiner als 1 µm.

Beispiel 3:

Eine Mischung aus 300 g hochgereinigtem Fischöl, 15 g gereinigten Sojaphospholipiden, 100 mg α-Tocopherol, 300 mg Ascorbyl-

palmitat und 3 g Natriumstearat wird, wie unter Beispiel 1 beschrieben, dispergiert und nach Auffüllen auf 2 l mit Aqua ad iniectabilia (enthält 50 g Glycerol) homogenisiert, abgefüllt und sterilisiert. Die Emulsionströpfchen sind kleiner als 1 µm.

Patentansprüche

1. Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, enthaltend ω-3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, dadurch gekennzeichnet, daß die Fettemulsion
 - ω-3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfraktionen,
 - mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
 - gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyzeride (MCT),
 - gegebenenfalls α-Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche α-Tocopherolester,
 - gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie
 - übliche Zusatz- und Hilfsstoffe enthält, wobei
 - der gesamte Fettgehalt zwischen 2 und 20 % liegt und
 - der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 20 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

2. Fettemulsion gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß dieses Fischöl erhältlich ist durch Verarbeitung von Kaltwasserfischen, beispielsweise von Makrele, Sardine, Hering oder Lachs.

3. Fettemulsion gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Fischöl ein hochgereinigtes Fischölkonzentrat mit einem Gehalt an EPA von mindestens 25 % (bezogen auf die Fettsäuremethylester des Fischölkonzentrats) ist.

4. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die als Eventual-Fettkomponenten eingesetzten mittel-

kettigen Triglyceride zu mindestens 90 % aus Glyzeriden der Caprylsäure (C_8) und Caprinsäure (C_{10}) bestehen und der Gehalt dieser Komponente 0 bis 90 % (bezogen auf den lipophilen Anteil) beträgt.

5. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der eingesetzte Emulgator ein Phospholipid tierischen oder pflanzlichen Ursprungs, insbesondere aus Hühnereigelb oder Sojabohne, ist.

6. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie weitere Emulgierhilfsstoffe wie Natriumsalze langkettiger Fettsäuren (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) und/oder Cholesterin oder Cholesterinester (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) enthält.

7. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß sie 0 bis 100 mg α-Tocopherol oder α-Tocopherolester, bezogen auf 100 g Fett, enthält.

8. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß sie 0 bis 500 mg Ascorbinsäure oder Ascorbinsäureester, bezogen auf 100 g Fett, enthält.

9. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen pH-Wert im Bereich von 6 bis 9 aufweist.

10. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Anwendung als Prophylaxe und Therapie der respiratorischen Insuffizienz.

11. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Anwendung bei inhalativen Noxen wie beispielsweise Rauchvergiftungen und Verbrennungen der Atemwege.

12. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Anwendung bei chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen wie beispielsweise Asthma und chronischer Bronchitis.

13. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Anwendung bei der Prophylaxe und Therapie der Aspirationspneumonie.

14. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Ernährung.

15. Verwendung der Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 bei den medizinischen Indikationen gemäß Ansprüchen 10 bis 14 zum Zweck der Verbesserung der Splanchnikusperfusion und damit der Steigerung der Klärfunktion des RES.

16. Verfahren zur Herstellung einer Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, enthaltend ω-3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, dadurch gekennzeichnet, daß man

- ω-3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfraktionen,
- mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
- gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyzeride (MCT),
- gegebenenfalls α-Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche α-Tocopherolester,
- gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie
- übliche Zusatz- und Hilfsstoffe

durch Dispergieren und anschließendes Homogenisieren zu einer Emulsion verarbeitet, wobei

- der gesamte Fettgehalt zwischen 2 und 20 % liegt und
- der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 20 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

Abbildung 1: Histologische Untersuchung von Lungengewebe



Abb. 1a: Gruppe I

Abb. 1b: Gruppe II

Abb. 1c: Gruppe III

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 90/00170

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) [6]

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl.[5] A 61 K 31/20, A 61 K 31/23, A 61 K 9/00, A 61 K 9/107, A 61 K 17/24

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched [7]

Classification System	Classification Symbols
Int.Cl.[5]	A 61 K

Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched [8]

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT [9]

Category [10]	Citation of Document, [11] with indication, where appropriate, of the relevant passages [12]	Relevant to Claim No. [13]
A	EP, A, 0298293 (FRESENIUS) 11 January 1989 see claims 1,8-11,20; page 3, lines 10-13,28-30,40-49; page 5, lines 1-8	1-3,5,6,16
P,A	EP, A, 0311091 (MELSUNGEN) 12 April 1989 see claims 1- 13,22-24 (cited in the application)	1-16

* Special categories of cited documents: [10]

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report
1 June 1990 (01.06.90)	27 June 1990 (27.06.90)
International Searching Authority	**Signature of Authorized Officer**
European Patent Office	

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO. EP 9000170 SA 34851

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 15/06/90
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A- 0298293	11-01-89	DE-A- 3722540	19-01-89
EP-A- 0311091	12-04-89	DE-A- 3734147	20-04-89

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 90/00170

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)[6]

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

Int.Cl.[5] A 61 K 31/20, A 61 K 31/23, A 61 K 9/00, A 61 K 9/107, A 61 K 17/24

II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff[7]

Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole
Int.Cl.[5]	A 61 K

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen[8]

III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN[9]

Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung[11], soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile[12]	Betr. Anspruch Nr.[13]
A	EP, A, 0298293 (FRESENIUS) 11. Januar 1989 siehe Ansprüche 1,8-11,20; Seite 3, Zeilen 10-13,28-30,40-49; Seite 5, Zeilen 1-8 --	1-3,5,6,16
P,A	EP, A, 0311091 (MELSUNGEN) 12. April 1989 siehe Ansprüche 1-13,22-24 in der Anmeldung erwähnt ----------	1-16

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen[10]:

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

IV. BESCHEINIGUNG

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
1. Juni 1990	27. 06. 90
Internationale Recherchenbehörde	**Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten**
Europäisches Patentamt	H. Daniels H. DANIELS

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

EP 9000170
SA 34851

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 15/06/90
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A- 0298293	11-01-89	DE-A- 3722540	19-01-89
EP-A- 0311091	12-04-89	DE-A- 3734147	20-04-89

EPO FORM P0479